

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Жеребятёва О. О.¹, Махалова Г. О.¹, Киргизова С. Б.¹, Кшнясева С. К.¹, Миронов А. Ю.², Михайлова Е. А.¹

МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ И МИКРОФЛОРА РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ДО И ПОСЛЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

¹ГБОУ ВПО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 460000, Оренбург, Россия;

²ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия

В клинической медицине широко используются иммуномодулирующие препараты, как лекарственные средства для лечения воспалительных заболеваний микробной этиологии. Проведена оценка эффективности лечебного действия иммуномодулятора «Циклоферон» при терапии хронических гнойно-воспалительных заболеваний репродуктивного тракта по клиническим, микробиологическим, иммунологическим параметрам. Под воздействием иммуномодулирующей терапии наблюдалось восстановление видового и количественного состава нормофлоры с элиминацией этиологически значимых микроорганизмов. Установлено иммунокорректирующее действие терапии на показатели мукозального иммунитета: в цервикальном секрете увеличивалась концентрация лактоферрина, нормализовался уровень содержания цитокинов ИЛ-1β и γ-IFN, увеличилось количество секреторного IgA, что способствовало усилению местных защитных реакций и клинической эффективности терапии, что проявлялось в уменьшении и/или исчезновении болевого синдрома, отсутствии рецидива в течение двух и более лет. Проведённые исследования свидетельствуют об иммуотропных препаратах как перспективном направлении в терапии воспалительных процессов репродуктивного тракта, значительным преимуществом которого является рациональная иммуномодуляция непосредственно в очаге воспаления, доступность проведения, отсутствие побочных эффектов при адекватных терапевтических режимах, что делает актуальным дальнейшее изучение данного направления иммунокоррекции и внедрения его в широкую клиническую практику.

Ключевые слова: иммуномодулирующая терапия; циклоферон; мукозальный иммунитет; микрофлора.

Для цитирования: Жеребятёва О.О., Махалова Г.О., Киргизова С.Б., Кшнясева С.К., Миронов А.Ю., Михайлова Е.А. Мукозальный иммунитет и микрофлора репродуктивного тракта гинекологических больных до и после иммуномодулирующей терапии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (3): 177-180. DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-3-177-180>

Zherebyateva O. O., Makhalova G. O., Kirgizova S. B., Kshnyaseva S. K., Mironov A. Yu., Mikhailova E. A.

LOCAL IMMUNITY AND MICROFLORA OF THE REPRODUCTIVE TRACT OF GYNECOLOGICAL PATIENTS BEFORE AND AFTER IMMUNOMODULATING THERAPY

¹The Orenburg state medical university of Minzdrav of Russia, Orenburg, 460000, Russian Federation;

²The G. N. Gabricheskiy Moscow research institute for epidemiology and microbiology of Rospotrebnadzor, Moscow, 125212, Russian Federation

Immunomodulatory drugs are widely used as drugs for the treatment of inflammatory diseases of microbial etiology in clinical medicine. The authors evaluated the effectiveness of the therapeutic effect of the Cycloferon immunomodulator in the treatment of chronic purulent-inflammatory diseases of the reproductive tract using clinical, microbiological and immunological parameters. It was shown that under the influence of immunomodulatory therapy, the restoration of the qualitative and quantitative composition of the normoflora was observed with the elimination of etiologically significant microorganisms. The immunocorrective effect of therapy on the indices of local immunity was established: the concentration of lactoferrin increased in the cervical secretion, the level of cytokines IL-1β and γ-IFN normalized, the amount of secretory IgA increased significantly, which contributed to the enhancement of local protective reactions, as well as the clinical efficacy of therapy, which was manifested in the reduction and/or disappearance of pain syndrome and the absence of relapse for 2 or more years. Conducted researches allow us to speak of immunotropic drugs as a promising direction in the treatment of inflammatory processes of the reproductive tract, a significant advantage of which is rational immunomodulation directly in the focus of inflammation, the availability of treatment, the absence of side effects with adequate therapeutic regimens, which makes it relevant to further study this direction of immunocorrection and its implementation into wide clinical practice.

Key words: immunomodulatory therapy; cycloferon; local immunity; microflora.

For citation: Zherebyateva O. O., Makhalova G. O., Kirgizova S. B., Kshnyaseva S. K., Mikhailova E. A., Mironov A. Yu. Microflora and local immunity of the reproductive tract of gynecological patients before and after immunomodulatory therapy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (3): 177-180 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-3-177-180>

For correspondence: *Mikhailova E.A.*, Doctor of Biological Sciences, professor's assistant, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology; e-mail: l Elenaalekseevna@yandex.ru

Information about authors:

Zherebyateva O. O., <https://orcid.org/0000-0002-6751-3519>;
Makhalova G.O., <https://orcid.org/0000-0001-8949-8877>;
Kirgizova S. B., <https://orcid.org/0000-0002-8594-2835>;
Kshnyaseva S.K., <https://orcid.org/0000-0002-9157-205X>;
Mironov A. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;
Mikhailova E. A. <https://orcid.org/0000-0003-1074-8963>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 13.11.2020
Accepted 23.11.2020

Введение. В современных условиях воспалительные заболевания половых органов характеризуются рядом особенностей: увеличением значимости условно-патогенной микрофлоры, ростом антибиотикорезистентности микроорганизмов, изменением клинической картины – бессимптомные, стёртые формы, атипичное течение [1]. Одним из признаков воспаления, является нарушение функции вовлечённого органа. В случае урогенитального микробного поражения у женщин репродуктивного возраста, помимо дискомфорта, болевого синдрома и нарушений сексуальной активности, тяжелейшими физиологическими и социальными осложнениями являются нарушения фертильности [2, 3].

Развитие и течение инфекционного процесса во многом определяется состоянием иммунореактивности организма и, прежде всего, эффективностью локальной антимикробной защиты репродуктивного тракта. Приводящие к тому изменения иммуно-эндокринной регуляции, являются мультиэтиологическими и проявляются на фоне цитокинового дисбаланса при участии микрофлоры биотопа [4,5].

Эффективность иммуномодулирующей терапии, как одного из методов лечения хронических инфекционно-воспалительных процессов, ставит вопрос об изучении влияния иммуномодуляторов на состав микрофлоры и на факторы местной противоинфекционной защиты репродуктивного тракта [6,7]. С этой точки зрения перспективным является исследование официального препарата «Циклоферон», применяемого в комплексном лечении урогенитальных воспалений, поскольку ранее показана целесообразность его применения в санации биотопов при длительно персистирующих возбудителях [8, 10].

Цель исследования – оценка эффективности действия иммуномодулятора «Циклоферон» при терапии хронических гнойно-воспалительных заболеваний репродуктивного тракта на основе микробиологических, иммунологических, клинических критериев.

Материал и методы. Обследовано 80 пациенток с хроническими гнойно-воспалительными заболеваниями репродуктивного тракта (ХГВЗ): хронический вагинит, хронический сальпингит и оофорит, хроническая воспалительная болезнь матки, проходивших обследование и лечение в ГАУЗ ООКБ № 2 г. Оренбурга. Все пациентки дали информированное согласие на проведение обследования и лечения.

Всем больным до и после лечения проводилось бактериологическое исследование с последующей видовой идентификацией микрофлоры при помощи тест-систем «ENTEROtest», «STREPTOtest», «NEFERMtest», «STARPHYtest», «ANAEROtest» (Lachema, Чехия). Факторы мукозального иммунитета до и после лечения определя-

ли методом твёрдофазного иммуоферментного анализа тест-системами с использованием наборов реагентов: лактоферрин («Вектор-Бест», Россия), C₃ компонент комплемента («Цитокин», Россия), секреторный IgA (sIgA) («Полигност», Россия), ИЛ-1β и γ-IFN («Цитокин», Россия).

Лечение больных проведено индуктором эндогенного интерферона – препаратом «Циклоферон» (регистрационный номер: Р № 001049/01 от 14.03.2008). Производитель: ООО «Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН». Препарат циклоферон назначали внутримышечно в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием непараметрических методов [9].

Результаты. Микробиологическое исследование цервикального отделяемого у пациенток с ХГВЗ показало, что спектр выделенных микроорганизмов, характеризовался большим разнообразием аэробной условно-патогенной микрофлоры: *Staphylococcus aureus* выделен в 43,8±9,0% случаях, преобладающим видом среди коагулазоотрицательных стафилококков (КОС) являлся *S. epidermidis*, доля которого составила 18,7±10,0%, другие КОС регистрировались с частотой 12,5±10,4% (*S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*). Стрептококки из исследуемого материала выделены в 25,0±10,4% случаев (*S. salivarius*, *S. acidominimus*, *S. vestibularis*, *S. parauberis*). Среди энтеробактерии доминирует *E. coli* в 68,7±6,2%, тогда как представители родов *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.* регистрировались только 17,5±10,1%; реже среди выделенных штаммов встречались неферментирующие бактерии, представленные *Pseudomonas aeruginosa* (12,5±10,4%); энтерококки (преимущественно, *E. faecalis*) высеивались в 16,2±10,2% случаев, грибы рода *Candida* выделены в 12,5±10,4% (преимущественно, *C. albicans*). Культуральное исследование выявило и представителей нормофлоры, характерных для данного биотопа, таких как бактерии рода *Lactobacillus spp.* и *Corynebacterium spp.* (в 23,7±9,7% и 26,2±9,5% случаев, соответственно). Анаэробные микроорганизмы изолированы в 27,5%±9,4% случаев и представлены грамположительными (*Clostridium ramosum*, *Actinomyces naeslundii*) и грамотрицательными (*Bacteroides distasonis*, *Fusobacterium mortiferum*, *Mitsuokella multiacidus*, *Capnocytophaga ochracea*) палочками и грамположительными кокками – *Streptococcus parvulus*, *Peptococcus saccharolyticus*.

При анализе иммунологических показателей цервикального секрета у женщин с ХГВЗ изучен средний уровень гуморальных факторов антимикробной защиты цервикальной слизи. Первичное исследование показало: уровень цитокинов составил – ИЛ-1β – 39,7±3,6 пг/мл

и γ -IFN – $10,1 \pm 0,6$ пг/мл; лактоферрина – 1153 ± 49 нг/мл, C_3 компонент комплемента – $3,8 \pm 0,1$ мг/мл; уровень секреторного IgA (sIgA) – $7,65 \pm 0,3$ мг/мл.

Для терапии пациенток с ХГВЗ, использован препарат «Циклоферон». Все женщины, проходившие лечение в больнице, отмечали положительную динамику, что проявлялось в уменьшении и/или исчезновении болевого синдрома. После лечения циклофероном наблюдалось отсутствие рецидива в течение двух лет. Сравнительный анализ состояния микробиоценоза и локальных механизмов противоинфекционной защиты половой системы женщин при использовании иммуномодулирующей терапии проведён через 1 мес после окончания лечения.

Под действием иммуномодулирующей терапии наблюдалось восстановление нормофлоры: возрос показатель частоты выделения бактерий рода *Lactobacillus spp.* и *Corynebacterium spp.* ($33,7 \pm 9,0\%$ и $36,2 \pm 8,8\%$, соответственно). После лечения отмечалось уменьшение частоты выделения стафилококков ($17,5 \pm 10,1\%$), энтерококков ($11,2 \pm 10,4\%$), грибов рода *Candida* ($11,2 \pm 10,4\%$). Изучение микробиоценоза генитального тракта после проведённого лечения выявило снижение частоты выделения представителей семейства *Enterobacteriaceae* (в том числе *E. coli*) до $18,7 \pm 10,0\%$ случаев. Значительных видовых и количественных изменений в составе анаэробной микрофлоры после лечения не установлено.

Проведённая иммуномодулирующая терапия, оказывает влияние на микробиологические параметры и на состояние мукозального иммунитета. После окончания лечения у женщин с ХГВЗ в цервикальном секрете увеличивалась концентрация лактоферрина (1751 ± 94 нг/мл), отмечалось понижение до нормального уровня содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β ($14,1 \pm 2,1$ пг/мл), γ -IFN ($7,2 \pm 0,4$ пг/мл), увеличилось количество секреторного IgA ($50,1 \pm 3,9$ мг/мл), тогда как средний уровень C_3 компонента комплемента после лечения сохранился практически на прежнем уровне ($3,9 \pm 0,1$ мг/мл).

Обсуждение. Иммуномодулирующая терапия сопровождается изменениями микробной экологии репродуктивного тракта, при этом изменения в микробиоценозе связаны не только с элиминацией ряда патогенных видов микроорганизмов, но и увеличением частоты выделения представителей нормофлоры.

Положительным эффектом иммунотерапии препаратом «Циклоферон» является, отмеченная у всех пациенток, нормализация ИЛ-1 β и γ -IFN, рассматриваемых в качестве предикторов фертильности [2]. Позитивные изменения иммунологических показателей в цервикальном секрете проявились в усилении местных защитных реакций и в клинической эффективности терапии.

Полученные в ходе работы данные представляют интерес в свете предварительно проведённых нами исследований. Ранее нами показано, что метилглюкаминная соль карбоксиметиленакридона – циклоферон, в большей, по сравнению с иммуномодуляторами других групп, степени подавляет пенетрантность и экспрессивность карнозин- и лизоцимнейтрализующих свойств микрофлоры [10]. Указанная способность микроорганизмов к инаktivации эффекторов врождённого иммунитета ведёт к их длительной персистенции, и, следовательно, модификация цитокинового зеркала экологической ниши. Учитывая, воздействие циклоферона на обе составляющие инфекционного процесса, представляет-

ся целесообразным, рассматривать данный иммуномодулятор в качестве одного из предпочтительных препаратов для коррекции состояния биотопа.

Эффективность иммуномодулирующей терапии может быть связана с её нормализующим действием на микробиоценоз репродуктивного тракта, что подтверждается элиминацией этиологически значимых штаммов микроорганизмов [11] и с иммунокорректирующим действием на показатели мукозального иммунитета [12–14]. Применение циклоферона в качестве иммуностропного препарата является эффективным, патогенетически обоснованным способом терапии для устранения дисфункций в системе мукозального иммунитета и восстановления колонизационной резистентности репродуктивного тракта женщин с гнойно-воспалительными заболеваниями репродуктивного тракта. Регистрируемая динамика параметров мукозального иммунитета, клинических данных и характеристик микрофлоры позволяет дать оценку рациональности применения изучаемого иммуностропного препарата с точки зрения использования его в практике.

Выводы:

1. Нормализация состояния микробиоценоза урогенитального тракта под воздействием препарата «Циклоферон» выражается в изменении концентраций цитокинов отделяемого половых путей и модификации видового и количественного состава микрофлоры данного биотопа.

2. ИЛ-1 β и γ -IFN являются показателями состояния мукозального иммунитета урогенитального тракта женщин.

3. Определение концентрации ИЛ-1 β – и γ -IFN уместно проводить для диагностики отклонений от нормального состояния и для детекции модулирования локальной иммунной реакции медикаментозными средствами.

Финансирование. Научные исследования выполнены по проекту «Технология рационального применения лекарственных препаратов, избирательно подавляющих факторы вирулентности микроорганизмов» НИИР в рамках государственного задания Минздрава Российской Федерации на 2018–2020 годы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Довлетханова Д.Р. Возможность применения иммуномодуляторов в комплексном лечении ВЗОМТ. *Медицинский совет*. 2012; 12: 84–7.
2. Кшнясева С.К., Жеребятёва О.О., Махалова Г.О., Михайлова Е.А., Константинова О.Д., Киргизова С.Б. и др. Способ профилактики постинфекционных репродуктивных нарушений. Патент РФ № 2686302 С1; 2019.
3. Яковлева Е.А. Пути восстановления функциональной активности репродуктивных органов женщин после перенесённых воспалительных заболеваний. *Научные ведомости Белгородского государственного университета*. Серия: Медицина, Фармация. 2013; 24(168): 66–72.
4. Долгушин И.И., Курносенко И.В., Спиридонова К.С., Долгушина В.Ф., Никушкина К.В. Показатели врождённого иммунитета у беременных с хроническим эндометритом в анамнезе. *Иммунпатология, аллергология, инфектология*. 2016; 1:27–31.
5. Андиферова Ю. С., Сотникова Н. Ю., Шохина М. Н. Цитокиновый профиль перинеальной жидкости при эндометриозе: связь с бесплодием. *Цитокины и воспаление*. 2002; 11(2): 145–6.
6. Летяева О.И., Гизингер О.А. Место иммунокорректирующих препаратов в терапии воспалительных заболеваний урогени-

- тального тракта, ассоциированных с оппортунистическими микроорганизмами. *Уральский медицинский журнал*. 2013; 7: 163-8.
- Летяева О.И., Гизингер О.А. Терапия урогенитальных микстинфекций у женщин репродуктивного возраста: современное состояние проблемы. *Гинекология*. 2014; 16 (6): 15-20.
 - Линимент циклоферона (меглумина акридоната) в клинической практике: Клинические рекомендации для врачей. СПб: Изд-во «Тактик-Студио»; 2007.
 - Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л.: Медицина; 1973.
 - Михайлова Е.А., Киргизова С.Б., Миронов А.Ю., Жеребятъева О.О., Махалова Г.О. Санация стафилококкового бактерионосительства – новые возможности и перспективы *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60 (7): 56-7.
 - Нестеров И.М. Эффективность 5% линимента циклоферона в терапии вагинальных инфекций и дисбиозов. *Трудный пациент*. 2009; 7 (8-9): 17-20.
 - Аракелян М.А., Галкина О.В., Нестеров И.М., Сысоев К.А., Айламазян Э.К., Тотолян А.А. Дефекты местного иммунитета при хронических заболеваниях нижних отделов репродуктивного тракта и возможности коррекции ликолипидом. *Российский иммунологический журнал*. 2007; 10 (1): 56-61.
 - Михайлова Е.А., Махалова Г.О., Жеребятъева О.О., Киргизова С.Б., Азнабаева Л.М., Фомина М.В. и др. Иммуномодулирующая терапия постинфекционных нарушений фертильности. *Российский иммунологический журнал*. 2018; 21(3): 375-8.
 - Тотолян А.А., Нестеров И.М., Галкина О.В., Коваленко А.Л., Алексеева Е.Ф., Алёшина Л.А. и др. Клинико-иммунологическая эффективность линимента циклоферона в лечении больных некоторыми формами вагинальных инфекций. *Медицинская иммунология*. 1999; 1(3-4): 137-8.
 - vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta*. Seriya: Meditsina, Farmatsiya. 2013; 24 (168): 66-72. (in Russian)
 - Dolgushin I. I., Kurnosenko I. V., Spiridonova K. S., Dolgushina V. F., Nikushkina K. V. Innate immunity of pregnant women with a history of chronic endometritis. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2016; 1:27-31. (in Russian)
 - Antsiferova Yu. S., Sotnikova N. Yu., Shokhina M. N. Cytokine pro-file of perineal fluid in endometriosis: connection with infertility. *Tsitokiny I vospalenie*. 2002; 11(2): 145-6. (in Russian)
 - Letyaeva O. I., Hisinger O. A. Place immunocorrective drugs in the treatment of inflammatory diseases of the urogenital tract, associated with opportunistic pathogens. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 7: 163-8. (in Russian)
 - Letyaeva O. I., Hisinger O. A. Therapy of urogenital mixed infection in women of reproductive age: current state of problem. *Gynecologiya*. 2014; 16 (6): 15-20. (in Russian)
 - Liniment of cycloferon (meoglumin acridonacetate) in clinical practice: Clinical guidelines for physicians. St. Petersburg: Taktik-Studio; 2007. (in Russian)
 - Gubler E. V., Genkin A. A. Application of nonparametric criteria of statistics in medical and biological research. Leningrad: Meditsina; 1973. (in Russian)
 - Mikhailova E.A., Kirgizova S.B., Mironov A.Yu., Zherebyateva O.O., Mahalova G.O. Sanitation of staphylococcus bacteria carrying: new possibilities and prospectives. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 60 (7): 56-7. (in Russian)
 - Nesterov I. M. The effectiveness of 5% liniment cycloferon in the treatment of vaginal infections and dysbiosis. *Trudnyi patsient*. 2009; 7 (8-9): 17-20. (in Russian)
 - Arakelyan M.A., Galkina O.V., Nesterov I.M., Sysoev K.A., Ailamazyan E.K., Totolyan A.A. Defects of local immunity in chronic diseases of the lower parts of the reproductive tract and the possibility of correction with lycopid. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2007; 1 (10): 56-61. (in Russian)
 - Mikhailova E.A., Makhalova G.O., Zherebyatyeva O.O., Kirgizova S.B., Aznabaeva L.M., Fomina M.V. et al Immunomodulatory therapy of post-infectious disorders of fertility. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2018; 21 (3): 375-8. (in Russian)
 - Totolyan A.A., Nesterov I.M., Galkina O.V., Kovalenko A.L., Alekseeva E.F., Aleshina L.A. et al. Clinical and immunological efficacy of cycloferon liniment in the treatment of patients with certain forms of vaginal infections. *Meditsinskaya immunologiya*. 1999; 1 (3-4): 137-8. (in Russian)

REFERENCES

- Dovletkhanova D. R. The possibility of using immunomodulators in the complex treatment of PID. *Meditsinskiy konsilium*. 2012; 12: 84-7. (in Russian)
- Kshnyaseva S. K., Zherebyateva O. O., Makhalova G. O., Mikhailova E. A., Konstantinova O. D., Kirgizova S. B. et al. Method for the prevention of post-infectious reproductive disorders. Patent RF № 2686302; 2019. (in Russian)
- Yakovleva E. A. Ways of restoring the functional activity of the reproductive organs of women after inflammatory diseases. *Nauchnye*

Поступила 13.11.20
Принята к печати 23.11.20